



TITLE:

Strain-Specific Manifestation of Lupus-like Systemic Autoimmunity Caused by Zap70 Mutation( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Matsuo, Takashi

---

CITATION:

Matsuo, Takashi. Strain-Specific Manifestation of Lupus-like Systemic Autoimmunity Caused by Zap70 Mutation. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-09-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13277>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	松 尾 崇 史
論文題目	Strain-Specific Manifestation of Lupus-like Systemic Autoimmunity Caused by <i>Zap70</i> Mutation (Zap70 遺伝子変異は、特定のマウス遺伝的背景においてループス様全身性自己免疫を発症させる)		
(論文内容の要旨)			
<p>全身性エリテマトーデス(SLE) は、免疫複合体の組織沈着を特徴とする全身性自己免疫疾患である。過去に T cell receptor(TCR) signal に関連する分子の欠損や発現の低下が報告されている。しかし、TCR signal の異常がどのように SLE の病態に関わっているかは、明らかになっていない。そこで、TCR signal の異常を持つマウスをつくり、ループスの病態が再現できるか実験を行った。モデルマウス作成にあたり注目したのが、TCR signal の異常をおこす <i>skg</i> 遺伝子とマウスバックグラウンドである。<i>skg</i> 遺伝子は、ZAP70 遺伝子の point mutation により、TCR signal の低下がおきる。本来、胸腺で除去されるべき自己反応性T細胞が末梢にいくことで、BALB/c バックグラウンドの SKG/b (BALB/c<sup>ZAP70 <i>skg/skg</i></sup>) マウスでは、non SPF 環境下で Th17 による自己免疫性関節炎をおこす。他の自己免疫疾患モデルで、マウスの遺伝的背景が BALB/c よりも C57BL/6 背景のほうがループスをおこしやすいことが報告されている (PD-1 KO, FcγR2b KO, Bcl2 transgenic)。そこで、C57BL/6 マウスに <i>skg</i> mutation をいれた C57BL/6<sup>ZAP70 <i>skg/skg</i></sup> マウスを作成し本論文の研究では、SPF 環境下で、C57BL/6<sup>ZAP70 <i>skg/skg</i></sup> (B6SKG) マウスがループスを発症するか実験を行った。</p> <p>方法として、SKG/b マウスを C57BL/6 マウスに 8 回バッククロスして B6SKG を作成した。ループスがおきているかは、抗 dsDNA 抗体 IgG の ELISA, 腎臓の免疫染色(IgG, C3) で評価した。脾臓の免疫染色で、胚中心形成を PNA+GL-7+CD38-で確認した。脾臓のフローサイトメトリーでは、抗体産生に関与する濾胞性ヘルパー T 細胞(Tfh) を CD4+CXCR5+Bcl-6+PD-1<sup>high</sup> で、胚中心 B 細胞(GC B cell) を B220+AA4.1-FAS+GL-7+ で解析した。脾臓の CD4 T 細胞の mRNA の発現は、Taqman real-time PCR で調べた。</p> <p>B6SKG マウスは、高率に腎臓の免疫染色でも糸球体に IgG, C3 の沈着を認め、ループス様の腎炎を発症し、関節炎はおきなかった。B6SKG は BALB/c, SKG/b, C57BL/6 と比べ、血清中の抗核抗体、抗 dsDNA 抗体 IgG の抗体価が著明に上昇していた。脾臓の病理では、胚中心の構造異常を認めた。B6SKG の脾臓の FACS では、Tfh の割合が他のマウスと比べ高く(6－10%)、GC B cell の割合も同様に他のマウスよりも高い傾向を示した。脾臓由来の CD4 T cell の mRNA では、IL-21 が高発現していた。Tfh が B6SKG で増加している原因として、樹状細胞の補助刺激分子である CD80, CD86, ICOSL が BALB/c バックグラウンドに比べて高発現しており、補助刺激分子をブロックすることで、免疫染色でも IgG, C3 の糸球体の蛍光強度は低下した。</p> <p>本論文において TCR signal の異常とマウスの遺伝的背景は、T細胞サブセットや疾患の表現型に影響を与えることが判明した。TCR signal の異常は、関節リウマチ、SLE の危険因子になりうることを報告されており、本研究において動物モデルでも証明された。Tfh は以前から BXSb など他のループスモデルマウスやヒトの SLE において、病態の関与が報告されている。B6SKG マウスは、ループスの病態においてT細胞がどのように関わっているかを検証する良いモデルマウスになりうると考えている。</p>			

(論文審査の結果の要旨)			
<p>全身性エリテマトーデス(SLE)は、過去に T cell receptor(TCR) signal に関連する分子の欠損や発現の低下が報告されていたが、その病態解明のマウスモデルが今までなかった。TCR signal を構成する主要な分子である Zap70 の W163 部位の点突然変異 (<i>skg</i> 変異) をもつ SKG マウスは、BALB/c バックグラウンドで自己免疫性関節炎を発症することが知られていた。本研究では、マウスの遺伝的背景をかえることで、SLE 様の病態が発症するかを検討した。<i>skg</i> 変異を C57BL/6 バックグラウンドに導入すると、抗核抗体や抗 dsDNA 抗体価の産生を伴い、腎糸球体への免疫複合体 (IgG, C3) の沈着を伴うループス様の腎炎を発症することを見出した (C57BL6<sup>ZAP70 skg/skg</sup> : B6SKG)。B6SKG マウスでは、濾胞性ヘルパー T 細胞(follicular helper T cell: Tfh)と胚中心 B 細胞が増加し Germinal Center が自然に増大していた。Tfh 分化には補助刺激分子が重要な役割を果たすため、樹状細胞での発現を wild type の BALB/c と C57BL6 マウスで比較したところ、CD80/86, ICOSL が C57BL/6 マウスで高発現しており、C57BL/6 背景で Tfh 分化がすみやすい一因となることが示唆された。CTLA4-Ig により CD28-CD80/86 の interaction をブロックすると B6SKG マウスの Tfh の割合は低下し、病理では腎糸球体の IgG, C3 の沈着が低下した。本研究は、ヒト疾患でみられる TCR シグナル異常が、特定の遺伝子背景のもと SLE の発症へとつながる分子メカニズムの一端を明らかにした研究であり、本研究で樹立した動物モデルは今後の SLE の病態解明にも寄与すると考えられる。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 元 年 8 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公表可能日：                      年                      月                      日以降			